

様式(7)

報告番号	甲栄 第221号
論文内容要旨	
氏名	池田 翔子
題目	Downregulation of renal type IIa sodium-dependent phosphate cotransporter during lipopolysaccharide-induced acute inflammation (リポ多糖誘導性急性炎症下におけるIIa型腎ナトリウム依存性リン輸送担体の抑制機構)
<p>無機リン酸(以下、リン)は、生体内に必須の栄養素であり、細胞内シグナル伝達、エネルギー代謝、核酸や細胞膜リン脂質の構成、骨形成などに重要な役割を果たしている。血中リン濃度は、腸管、骨及び腎臓の相互作用によって維持されているが、中でも腎近位尿細管によるリン再吸収調節が重要とされている。腎臓でのリン再吸収・排泄調節を担う分子としてII型ナトリウム依存性リン輸送担体(Npt2a, Npt2c)が同定されており、これらリン輸送担体の刷子縁膜での発現は、リン利尿ホルモンである副甲状腺ホルモン(PTH)及び線維芽細胞増殖因子23(FGF23)により抑制される。これまでに、敗血症をはじめとした重症患者においてリン代謝異常が報告されており、疾病の重症度や死亡率の上昇に関与することが知られている。しかしながら、急性炎症時のリン代謝の変動及びその分子メカニズムの詳細については未だ不明なままである。そこで本研究では、グラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分であるリポ多糖(Lipopolysaccharide; LPS)を内毒素として用い、急性全身性炎症下におけるリン代謝の変動とその分子メカニズムの解析を行った。</p> <p>7-9週齢のC57BL/6J雄マウスにLPS(20 mg/kg)を腹腔内投与した結果、3時間後に血中リン濃度及び尿中リン排泄の有意な上昇を示した。一方、血中カルシウム濃度に変化はみられなかったが、尿中カルシウム排泄は有意な低下を示した。また、血中PTH及びFGF23濃度はLPS投与3時間後に有意に上昇した。これらの反応は、低用量のLPS投与(2, 5, 10 mg/kg)においても観察された。LPSの受容体であるToll-like receptor 4(TLR4)の役割を検討するため、TLR4変異マウス(C3H/HeJ)を用いてLPS投与試験を行った。その結果、C3H/HeJマウスではLPSによる血中リン及びPTH濃度の上昇、尿中リン排泄の増加はみられなかった。また、LPS投与後の経時変化を調べた結果、LPS投与3時間後から血中リン及びPTH濃度の有意な上昇をみとめ、その上昇は9時間後まで継続した。一方、血中FGF23濃度はLPS投与3時間後に一過性の有意な上昇を示し、血中活性型ビタミンD濃度は9時間後まで変化がみられなかった。さらに、血中イオン化カルシウム濃度を測定した結果、投与3時間後に有意な低下を示した。次に、腎刷子縁膜におけるリン輸送担体の発現変動を検討した結果、LPS投与3時間後にNpt2aタンパク発現量の低下を確認したが、mRNA発現に変化はみられなかった。Npt2c発現については、タンパク及びmRNA発現ともに変化をみとめなかった。また、LPS誘導性炎症性サイトカインの一種であるTNF-αをマウスに投与した場合においても、有意な血中PTH濃度及び尿中リン排泄の上昇、尿中カルシウム排泄の低下、Npt2aタンパク発現量の低下を示した。そこで、LPS誘導性急性炎症下におけるPTHの役割を検討するため、副甲状腺摘出(PTX)ラットを用いてLPS投与試験を行った。その結果、擬似処置(Sham)ラットではマウスと同様の変動がみられたが、PTXラットでは尿中リン排泄及び腎Npt2a発現に対するLPS応答性が消失した。また、血中FGF23濃度はLPS投与により両群で有意に上昇した。</p> <p>以上の結果より、LPS誘導性急性炎症によって尿中リン排泄の上昇及び腎Npt2a発現の低下が生じること、またその誘導因子として、TNF-α及びPTHが重要であることが明らかとなった。</p>	

論文審査の結果の要旨	
報告番号	甲栄第 221 号 氏名 池田 翔子
審査委員	主査 高橋 章 教授 副査 阪上 浩 准教授 副査 馬渡 一論 講師
題目	Downregulation of renal type IIa sodium-dependent phosphate cotransporter during lipopolysaccharide-induced acute inflammation (リポ多糖誘導性急性炎症下におけるIIa型腎ナトリウム依存性リン輸送担体の抑制機構)
著者	Shoko Ikeda, Hironori Yamamoto, Masashi Masuda, Yuichiro Takei, Otoki Nakahashi, Mina Kozai, SarasaTanaka, Mari Nakao, Yutaka Taketani, Hiroko Segawa, Masayuki Iwano, Ken-ichi Miyamoto, and Eiji Takeda 2014年1月29日 American Journal of Physiology - Renal Physiologyに受理済
要旨	<p>本論文は、リポ多糖(LPS)誘導性急性炎症時におけるリン代謝変動及びその分子メカニズムに関する研究である。血中リン濃度の維持には、腎近位尿細管に発現するII型ナトリウム依存性リン輸送担体(Npt2a, Npt2c)による再吸収・排泄調節が重要である。これまでに、敗血症などの重症患者においてリン代謝異常がみられ、疾病の重症度や死亡率の上昇に関与することが報告されている。しかしながら、急性炎症時のリン代謝変動の詳細は未だ不明である。これらのことより、本研究ではLPSを内毒素として用い、急性炎症下のリン代謝変動及びその分子メカニズムの解析を行った。マウスにLPS(20 mg/kg)を腹腔内投与した結果、3時間後に血中リン濃度及び尿中リン排泄は有意な上昇を示した。一方、血中カルシウム濃度に変化はみられなかったが、尿中カルシウム排泄は有意に低下した。また、リン利尿ホルモンである副甲状腺ホルモン(PTH)及び線維芽細胞増殖因子23(FGF23)の血中濃度は、3時間後に有意な上昇を示した。これらの反応は、低用量のLPS投与(2,5,10 mg/kg)でも観察された。また、LPS投与後の経時変化は、血中リン及びPTH濃度は投与3時間後から9時間後まで継続して有意な上昇を示し、血中FGF23濃度は3時間後に一過性の有意な上昇を示した。次に、腎刷子縁膜のリン輸送担体発現を検討した結果、投与3時間後にNpt2aタンパク発現量は有意に低下した。さらに、LPS誘導性炎症性サイトカインであるTNF-α投与によっても、血中PTH濃度及び尿中リン排泄の上昇、Npt2aタンパク発現量の低下を示した。LPS誘導性急性炎症時のリン代謝を調節するPTHの意義を、副甲状腺摘出(PTX)ラットを用いて検討した。その結果、擬似処置(Sham)ラットではマウスと同様の変動がみられたが、PTXラットでは尿中リン排泄及び腎Npt2a発現に対するLPS応答はみられなかった。</p> <p>以上、本研究ではLPS誘導性急性炎症によって尿中リン排泄の上昇及び腎Npt2a発現の低下が生じること、またその誘導因子として、TNF-α及びPTHが重要であることを明らかにした。本論文は、急性炎症時にリン代謝が変動する分子メカニズムを明らかにしたものであり、博士(栄養学)の学位授与に値すると判定した。</p>